Über erschöpfende Extraktion von alkohol- und wasserlöslichen Phosphorverbindungen aus Pflanzenteilen.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

IN DER MEDIZIN, CHIRURGIE UND GEBURTSHILFE

DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER GEORG-AUGUST-UNIVERSITÄT ZU GÖTTINGEN

VORGELEGT VON

HERMANN ULRICH

AUS BERLIN.

LEIPZIG,

VERLAG VON F. C. W. VOGEL.

1912.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548101_0170

Über erschöpfende Extraktion von alkohol- und wasserlöslichen Phosphorverbindungen aus Pflanzenteilen.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
IN DER MEDIZIN, CHIRURGIE UND GEBURTSHILFE

DER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER GEORG-AUGUST-UNIVERSITÄT ZU GÖTTINGEN

VORGELEGT VON

HERMANN ULRICH
AUS BERLIN.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

LEIPZIG,
VERLAG VON F. C. W. VOGEL.
1912.

Der medizinischen Fakultät der Universität Göttingen vorgelegt

am 29. April 1912.

Referent: Prof. W. Heubner.

Die Drucklegung ist seitens der Fakultät genehmigt.

I.

Für die Bestimmung der verschiedenen Arten von Phosphorverbindungen in Nahrungsmitteln oder in pflanzlichen und tierischen Geweben überhaupt sind Methoden in Gebrauch, die zweifellos einen allgemeinen Einblick in die Verteilung dieser Verbindungen erlauben. Gewisse Probleme lassen es jedoch wünschenswert erscheinen, über diese Verteilung absolut genaue Orientierung zu erhalten: so besonders die Fragen nach der Umsetzung und Bildung einzelner bestimmter Phosphorverbindungen, nach ihrer Bedeutung für das physiologische Wachstum der einzelnen Gewebe oder für die Restitution krankhafter Prozesse.

Die Auftrennung der verschiedenen Fraktionen von Phosphorverbindungen muß in erster Linie deren verschiedene Löslichkeit in Extraktionsmitteln zu Hilfe nehmen. Als drei Hauptgruppen lassen sich unterscheiden die alkohollöslichen, die wasserlöslichen und die eiweißartigen, in beiden Lösungsmitteln unlöslichen Verbindungen. Zu den wasserlöslichen rechnet man dabei zweckmäßigerweise alle in verdünnte Säure übergehenden Verbindungen, weil anorganische Phosphorsäure und ihre wasserlöslichen Ester in vielen Geweben zum Teil in Form von unlöslichen Erdalkalisalzen zugegen sind

Die Kosten dieser Untersuchung wurden aus einer dankenswerten Zuwendung der Jagor-Stiftung zu Berlin bestritten.

Dieser Punkt ist in der Arbeit von Heubner und Reeb[1]) seinerzeit nicht genügend beachtet worden, weshalb ihre Angaben — besonders bei pflanzlichen Materialien — Fehler aufweisen.

Als erste Aufgabe für eine vollkommen exakte Bestimmung ergibt sich also die quantitative Trennung der drei Gruppen: alkohollösliche, säurelösliche und unlösliche Phosporverbindungen; innerhalb der beiden letzten Gruppen wären dann erst anorganische von Esterphosphorsäure, sowie Nuklein — von Eiweißphosphor zu scheiden. Ich habe mich nun damit befaßt, die Bedingungen festzustellen, unter denen man die alkohollöslichen und säurelöslichen Verbindungen aus pflanzlichen Materialien quantitativ erhält und zwar völlig frei von Beimengungen aus anderen Gruppen.

Als Material diente mir Weizenkleie und Hafer. Die Kleie stammte aus einem Getreide- und Fouragegeschäft in Göttingen (beste Futterkleie). Sie wurde ohne weiteres zur Bestimmung verwendet. Um eine Gleichmäßigkeit möglichst zu garantieren, wurde sie gut durchgeschüttelt und in einem großen Glasgefäß mit eingeschliffenem Glasstöpsel aufbewahrt. Der Hafer (bester Saathafer aus dem gleichen Geschäft) wurde in einer Handmühle gemahlen. Eine vollkommen gleichmäßige Durchmischung des Mehles mit den Hüllen war nicht zu erzielen. Da nun die Hüllen bekanntlich viel phosphorreicher sind als das Mehl, so erklären sich daraus wohl die Differenzen, die sich namentlich bei der Gesamtbestimmung des Phosphors in verschiedenen Haferportionen ergaben.

Zur Bestimmung des Phosphors bediente ich mich stets der Methode von Neumann, unter Berücksichtigung der Modifikationen von Wendt[2]) und Gregersen[3]); Extraktionsmittel wurden vorher durch Abdampfen oder Destillieren entfernt.

II.

Alkoholextraktion.

In den meisten Versuchen nahm ich die Extraktion mit Alkohol zuerst vor; nur einmal verwandte ich Substanz, die bereits ihre wasserlöslichen Phosphorverbindungen verloren hatte: dabei ergab sich eine deutliche Differenz, indem ich etwa drei Viertel der sonst

1) Schmiedeberg-Festschrift im Archiv f. experiment. Pathol. u. Parmakol. Supplement. 1908. S. 265.

2) Skandinav. Arch. f. Physiol. 17. 1905. S. 211.

3) Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 53. 1907. S. 453.

erhaltenen Menge an Phosphatiden nachweisen konnte (Tabelle I, Nr. 7). Das ist nicht verwunderlich, da Phosphatide ja auch in Wasser in geringem Maße kolloidal löslich sind und daher bei den vorhergegangenen 43 Extraktionen (Tabelle IV) zum Teil mit übergegangen waren. Der Versuch erweist also die Notwendigkeit, die Alkoholextraktion der Wasserextraktion voranzuschicken, wenn man exakte Resultate erhalten will.

Bei der Ausführung der Alkoholextraktion konnte ich mir bereits Erfahrungen zunutze machen, die schon vorher E. Durlach bei Extraktion tierischen Materials im Göttinger Pharmakologischen Institut gewonnen hatte. Dabei hatte sich zweierlei ergeben:

.. Eine Extraktion mit Äther ist vollkommen unnötig; die Ausbeute wird gegenüber bloßer Alkoholextraktion in keiner Weise verbessert[1]).

2. Zur Erzielung konstanter Werte bei Parallelbestimmungen an dem gleichen Material ist es unbedingtes Erfordernis, bei völligem Ausschluß von Wasser zu arbeiten; andernfalls gehen offenbar auch Phosphate (wasserlösliche Verbindungen) mit in den „Alkoholextrakt“ über.

Daß Ätherextraktion allein nicht genügt, um die Phosphatide quantitativ zu gewinnen, ist bereits hinlänglich erwiesen[2]); auch bestätigte mir das Professor Heubner auf Grund früherer Versuche über Phosphatidextraktion aus Spinat.

Die Wichtigkeit des Ausschlusses von Wasser hat auch Vorbrodt[3]) nachdrücklich hervorgehoben. Schulze und Steiger[4]) äußerten sich in ähnlichem Sinne.

Ich benutzte daher zu meinen Versuchen ausschließlich wasserfreien Alkohol, d. h. käuflichen absoluten Alkohol, der längere Zeit bis zum Augenblick seiner Verwendung über geglühtem Kupfersulfat gestanden hatte. Die Extraktion selbst wurde in völlig geschlossener Apparatur vorgenommen, an der sämtliche Verbindungen durch Kautschuk vermittelt waren; Kommunikation mit der Außenluft erfolgte nur durch Chlorkalziumröhrchen oder Peligotröhrchen, die mit konzentrierter Schwefelsäure beschickt waren.

---

1) Vgl. auch Kumagava und Suto, Quantitative Bestimmung von Fett und unverseifbaren Substanzen. Biochemische Zeitschr. 8. 1908. S. 212 ff.

2) Bayer, Landwirtschaftl. Versuchsstationen. 14. S. 165. — Dormayer, Pflügers Archiv. 61. S. 341. 1895. — Cyapeks, Biochemie der Pflanzen. I. S. 152. — Manasse, Biochemische Zeitschrift. 1. S. 246. 1906.

3) Vorbrodt, Anzeiger der Akademie der Wissensch. in Krakau. Oktober 1910. Nr. 8 A. S. 445.

4) Zeitschrift für physiolog. Chemie. 13. S. 365. 1889.

Die meisten Extraktionen führte ich mit heißem Alkohol im Soxleth-Apparat aus. Zur Verwendung kamen regelmäßig 10 g lufttrockener Substanz in Papierhülse von Schleicher und Schüll. Eine Trocknung der Substanz vor ihrer Extraktion erwies sich nicht als nötig, wie aus Versuch Nr. 6, Tabelle I ersichtlich ist: Substanz, die bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet war, ergab den gleichen Wert für Phosphatidextrakt wie lufttrockenes Material.

Von großer Bedeutung für eine Erschöpfung des Materials ist die Dauer der Extraktion — oder besser: die Zahl der Einzelextraktionen. Die bisher in der Literatur empfohlenen Arbeitsmethoden sind in dieser Hinsicht sämtlich ungenügend [1]). Ich habe bei der Kleie gefunden, daß das Minimum der Extraktionsdauer 20—24 Stunden sind. Bei längerer Extraktion wurden keine höheren Werte erhalten, während bei kürzerer Dauer die Resultate erhebliche Schwankungen aufweisen. Die Mindestextraktionsdauer ist nicht bei allen Pflanzen die gleiche, denn beim Hafer kam ich weit schneller zu einem konstanten Resultat als bei der Kleie (vom Weizen).

Die Ergebnisse meiner Versuche über die heiße Alkoholextraktion sind auf Tabelle I zusammengestellt. Aus ihr ist auch ersichtlich daß bei der Kleie eine achtzigmalige Extraktion noch nicht ausreichend ist und daß auch beim Hafer die Mindestzahl der Extraktionen mehr als 50 betragen muß. Wichtig erscheint mir der Nachweis, daß auch eine dreitägige Extraktion die Phosphatidmenge nicht vermehrt; er bietet die Sicherheit, daß bis zur Erreichung des Maximums in der Tat nur extrahiert, nicht etwa alkohollöslicher Phosphor dauernd durch den Alkohol gebildet wird.

Um über diesen Punkt noch weitere Aufklärung zu erhalten, habe ich auch Extraktionen mit kaltem Alkohol ausgeführt. Es ist kaum anzunehmen, daß dieser etwa „spaltend“ auf irgend welche komplexen Gebilde einwirken könnte, aus denen dann Phosphatide „frei“ würden („Eiweiß-lezithide“). Wenn durch Extraktion mit kaltem Alkohol das gleiche Maximum an Phosphatid zu gewinnen ist, wie durch heißen, so ist damit ein weiteres Argument dafür gewonnen, daß es in toto als solches im Gewebe vorgebildet ist.

Nun liegen aber die Dinge in bezug auf die Zeitdauer bei kalter Extraktion offenbar noch weit ungünstiger. Ich unternahm zwei

1) Bitto, Zeitschrift f. physiolog. Chemie. 19. S. 488. 1894. — Schulze und Steiger, Zeitschrift f. physiolog. Chemie. 13. S. 365. 1889. — Schulze, Zeitschrift f. physiolog. Chemie. 20. S. 225. 1894. — Kumagava und Suto, Biochemische Zeitschrift. 8. 1908. S. 218.

Versuche, je einen mit Kleie und mit Hafer; beide nahmen mehrere Wochen in Anspruch. Wegen Ferienbeginns kamen sie nicht völlig zum Abschluß: bei der Kleie gelangte ich nur bis zur Extraktion der Hälfte, beim Hafer bis zu zwei Dritteln der im Soxlethapparat gewonnenen Menge. Immerhin zeigte der Verlauf der Extraktion, daß das Material noch keineswegs an alkohollöslichem Phosphor erschöpft war. Es ist daher sicherlich die Hauptmenge (wahrscheinlich die Gesamtmenge) des durch heißen Alkohol extrahierbaren Phosphors auch in kaltem Alkohol ohne weiteres löslich.

Die Anordnung in diesen beiden Versuchen war nicht völlig gleichartig: die Kleie setzte ich einem dauernden langsamen Strom des Extraktionsmittels aus (Perkolation), während der Hafer in Intervallen mit frischem Alkohol beschickt wurde. Das lufttrockene Material (71,0 g Kleie, 100,0 g Hafer) befand sich in einem zylindrischen Glasgefäß, aus dem das Extrakt durch ein enges, mit Glasstopfen versehenes Rohr abfloß; der Zufluß erfolgte durch ein gleiches Rohr aus einem vor Luftfeuchtigkeit durch ein vorgelegtes Chlorkalziumrohr geschützten Reservoir.

Der dauernde Zufluß und Abfluß in dem Kleieversuch ließ sich schwer völlig gleichmäßig gestalten; die Geschwindigkeit des Durchflusses war daher ziemlich wechselnd, was die ungleichen Resultate der Phosphorbestimmungen in den einzelnen Fraktionen des Extraktes zur Genüge erklärt. Beim Hafer betrug die Dauer einer Extraktion in der Regel 22 Stunden. Die zwei Reststunden jedes Tages kamen auf das zum Teil nur tropfenweise erfolgende Abfließen des Extraktes.

Die Ergebnisse meiner Versuche mit kaltem absoluten Alkohol befinden sich auf Tabelle II. Bei der Kleie gelang es mir, in zirka 440 Stunden, bei einem Verbrauch von ungefähr 5800 ccm absolutem Alkohol, 0,019 Proz. Phosphor zu erhalten. Beim Hafer bekam ich in ungefähr 620 Stunden Extraktionszeit mit 5800 ccm Flüssigkeit 0,022 Proz. Phosphor.

III.

Wasserextraktion.

Die Extraktionen mit wässrigem Extraktionsmittel wurden auf einem Filter in einem einfachen Hahntrichter vorgenommen. Nach beliebiger Extraktionsdauer wurde das Extrakt durch Öffnen des Hahns abgelassen und das Extraktionsgut zwei bis dreimal mit dem Extraktionsmittel nachgewaschen. Die Versuche zerfallen in zwei Hauptgruppen: erstens verwendete ich Material, das noch nicht mit Alkohol extrahiert war, und solches, das bereits durch vorherige Behandlung mit

heißem Alkohol seine Phosphatide vollständig verloren hatte. Hierbei erhielt ich einen bemerkenswerten Unterschied zwischen beiden Extraktionsarten in bezug auf das notwendige Minimum der Zahl der Extraktionen. Aus der bereits mit Alkohol vorbehandelten Substanz war der wasserlösliche Phosphor nämlich weit schneller zu entfernen als aus der unbehandelten: es genügten bereits 9—13 Extraktionen statt 40. Für die einzelnen Extraktionen fand ich als günstigste Zeitdauer eine halbe bis eine ganze Stunde. Die Ergebnisse der sogenannten Wasserextraktionen habe ich auf Tabelle III und IV zusammengestellt.

Zum ersten Versuch benutzte ich Kleie, die bereits durch Alkohol extrahiert und danach im Vakuum über Schwefelsäure wieder getrocknet war. Als Extraktionsflüssigkeit probierte ich eine Lösung von 37 Proz. Ammoniumnitrat und 0,5 Proz. Salpetersäure. Die Ergebnisse finden sich auf Tabelle III a. Das Resultat in bezug auf die Zeitdauer der Extraktion war ein sehr günstiges, doch war die Veraschung der einzelnen Portionen sehr schwierig, so daß ich trotz jener Vorteile bei meinen Versuchen weiterhin bei einer 0,5 proz. Salpetersäure geblieben bin. Auch erweckt das Resultat des Versuchs noch nach einer anderen Richtung hin Bedenken. Die Gesamtmenge des extrahierten Phosphors betrug nämlich 1,31 Proz., während ich bei den Bestimmungen mit verdünnter Säure schon nach Extraktion von 1,04—1,09 Proz. Phosphor das Material erschöpft fand. Die direkte Bestimmung der Gesamtphosphorsäure ergab in zwei übereinstimmenden Werten 1,32 Proz. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß die konzentrierte Nitratlösung auch Phosphor in Lösung bringt, der nicht aus der Gruppe der wasserlöslichen Phosphorverbindungen stammt.

Das Arbeiten mit 0,5 proz. Salpetersäure scheint mir also weit zuverlässiger zu sein. Obendrein ist es viel sauberer und angenehmer und nimmt vor allen Dingen bei der Veraschung nicht soviel Zeit in Anspruch.

Tabelle III b gibt einen Überblick über einen solchen Versuch mit Kleie, die ebenfalls bereits mit Alkohol extrahiert war. Bei der achten Extraktion ist mir der Kolben gesprungen, so daß hier leicht etwas Material verloren gegangen sein kann. Trotzdem ist der Versuch brauchbar, da es mir ja weniger auf die zahlenmäßige Bestimmung des wasserlöslichen Phosphors in dieser speziellen Kleiesorte ankam, als auf die Dauer oder Zahl der Extraktionen, die nötig sind, um eine vollständige Erschöpfung an wasserlöslichen, d. h. säurelöslichen Phosphorverbindungen zu erreichen. Was diesen Punkt betrifft, so

zeigt die Tabelle, daß auch hier eine elfmalige Extraktion genügt, um den weiteren Auszug vollkommen phosphorfrei zu erhalten. In einem entsprechenden Versuch mit Hafer (Tabelle III c) war es möglich, in höchstens achtzehn Extraktionen mit einer Gesamtextraktionsdauer von höchstens 37 Stunden zu einem endgültigen Resultat zu kommen. Die neunzehnte Extraktion blieb frei von jedem Niederschlag mit molybdänsaurem Ammonium. Höchstwahrscheinlich ist sowohl die Extraktionswiederholung und die Gesamtextraktionsdauer noch bedeutend kürzer, da ich die Extraktionen 13—18 bei der Analyse vereinigt habe, um einen Niederschlag besser erkennen zu können. Die Titration habe ich, da beim Ausfällen der Extraktionen 13—18 nur ein sehr geringer Niederschlag entstanden war, zusammen mit der Titration der Extraktionen 1—12 ausgeführt. Sie ergab einen Wert von 0,28 Proz. Phosphor. Die drei ausgeführten Gesamtbestimmungen des Phosphors beim Hafer ergaben 0,34 Proz., 0,42 Proz. und 0,36 Proz. Phosphor.

Im Gegensatz zu dieser relativ schnellen Erschöpfung der Pflanzenteile an wasser- resp. säurelöslichen Phosphorverbindungen nach einer vorhergegangenen Behandlung mit heißem Alkohol, hat die Extraktion mit der gleichen Flüssigkeit, nämlich 0,5 Proz. Salpetersäure, eine weit längere Zeit und eine öftere Wiederholung der Extraktion erfordert, wenn die Substanz noch nicht von den lezithinartigen Verbindungen befreit war. Die Ergebnisse zweier solcher Versuche, je eines mit Hafer und mit Kleie, sind aus der Tabelle IV ersichtlich. In beiden Versuchen kam ich annähernd zu den gleichen Werten für die Gesamtmenge wasserlöslichen Phosphors, wie in den Versuchen der Tabelle III: Kleie ca. 1,08 (1,04), Hafer ca. 0,25 (0,28) Proz. Doch kann ich bei beiden keine ganz genauen Zahlen angeben.

Beim Hafer zersprang mir ein Kolben gleich derart, daß nichts mehr zu retten war. Auf diese Weise fehlt mir die Bestimmung der Extraktionen 13—16 und ich konnte diesen Verlust zahlenmäßig nur aus dem Resultat der vorhergehenden und nachfolgenden Bestimmung schätzen. Bei der Kleie ist der Wert für die Extraktionen 11—21 etwas zu hoch ausgefallen, da bei der Bestimmung versehentlich ein Bruchteil des Phosphormolybdatniederschlags von einer mißlungenen Bestimmung des Phosphorgehaltes der Extraktionen 1—10 beigemischt wurde. Der für diese Fraktion aufgeführte Wert ist aus einer korrekten Parallelbestimmung aus einer zweiten Teilportion des Gesamtextraktes 1—10 gewonnen. Berücksichtigung dieser Fehler nähert die erhaltenen Werte noch besser denen der früheren Versuche an.

Bei der Kleie bin ich erst nach 39 Extraktionen zu einem endgültigen Schluß gekommen; bei dem Hafer waren dazu sogar 42

Extraktionen notwendig. Während nun bei der Kleie eine wesentliche Quellung der Substanz trotz der langen Dauer der Gesamtextraktion von ungefähr 1000 Stunden nicht eintrat und bei der zweimaligen Nachspülung der einzelnen Extraktionen 30 Minuten nicht überschritten wurden, ging die Mindestdurchspülungsdauer beim Hafer selten unter zwei Stunden herunter. Oft ging sogar die Durchspülung so langsam vor sich, daß ich den Hahn des Trichters über Nacht offen stehen lassen mußte und erst am Morgen wieder frisch auffüllen konnte. In der Tabelle sind diese Zahlen mit ca. 12 Stunden angegeben. Merkwürdigerweise verloren sich diese langen Durchspülungszeiten nach der 18. Extraktion, nur bei der 38. und 39. Extraktion traten sie wieder auf. Die Extraktionsdauer beim Hafer betrug im ganzen ungefähr 1200 Stunden, doch sind sowohl bei der Kleie wie beim Hafer eine über die Ferien dauernde Extraktion von ungefähr 430 Stunden einbegriffen. Immerhin ist die Gesamtextraktionszeitdauer ganz bedeutend größer als bei der Extraktion nach Alkoholbehandlung, abgesehen davon, daß erst eine etwa 40 malige Extraktion imstande war, alle wasserlöslichen Phosphorverbindungen zu extrahieren.

Diese Resultate scheinen mir nach verschiedener Richtung hin von Interesse: Einmal beweist die erleichterte Wasserextraktion nach der Entfernung der fetthaltigen Substanzen von neuem deren Bedeutung für den Stoffaustausch der Gewebselemente mit der Umgebung, sei es nun durch Beteiligung am Aufbau von Zellmembranen oder mehr durch gleichmäßige Durchtränkung der gesamten protoplasmatischen und stützenden Masse der Gewebe.

Zweitens liefert jener Befund zugleich mit der Übereinstimmung der für wasserlöslichen Phosphor gefundenen Zahlen *vor* und *nach* längerer Behandlung mit heißem Alkohol ein Argument dafür, daß der wasserlösliche Phosphor als solcher im Gewebe *vorgebildet* ist. Eine *Produktion* wasserlöslichen Phosphors aus den unlöslichen, eiweißartigen Verbindungen hätte ja vor Umwandlung des *gesamten* Phosphors nicht zu einer bestimmt fixierten *Grenze* führen können. Die dauernde fermentative Entstehung mineralischer Phosphorsäure aus organischen Verbindungen, wie sie von Iwanoff[1]) bei Digestion mit Wasser, von Suzuki und Yoshimura[2]) sowie von Vorbrodt[3]) bei Digestion mit verdünnter Säure beobachtet wurde

1) Zitiert nach Vorbrodt, loc. citat. S. 415, 458.

2) Bull. of the college of Agriculture, Tokyo 1907; zitiert nach Vorbrodt, loc. citat. S. 449, 459.

3) loc. citat. S. 435/436, 457.

scheint also nur innerhalb der Gruppe der wasserlöslichen Verbindungen vor sich zu gehen.

Heubner und Reeb[1]) haben nach einer achtstündigen Alkoholextraktion die Substanz bloß einmal in Wasser aufgeschwemmt, aufgekocht und dann dreimal mit Wasser nachgewaschen. Hierbei werden allerdings alle fermentativen Prozesse, die zur Bildung mineralischer Phosphorsäure führen könnten, unterbrochen, doch ist es nach meinen Versuchen ausgeschlossen, daß durch diese Art der Extraktion alle wasserlöslichen Phosphorverbindungen entfernt werden. Nur der größte Teil wird erhalten, wie Tabelle III zeigt.

Katz[2]) hat zur Bestimmung der wasserlöslichen Phosphorsäure in Fleisch das Material sogar vor der Alkoholextraktion portionsweise in siedendes Wasser geworfen und nach dem Abfiltrieren nur noch zweimal mit der sechsfachen Wassermenge ausgezogen.

Meine Untersuchungen berechtigen, als zuverlässigstes Verfahren zu einer quantitativen analytischen Trennung der drei Hauptgruppen von Phosphorverbindungen das folgende vorzuschlagen:

1. 24stündige Extraktion des trockenen Materials mit absolutem Alkohol bei strengstem Ausschluß von Feuchtigkeit.

2. Danach Extraktion mit verdünnter Säure unter vielfacher (zirka 20facher) Wiederholung bei Zimmertemperatur.

Für weitere analytische Trennung der Esterphosphorsäure von der mineralischen im Extrakt werden sich vielleicht schwer allgemein gültige Regeln aufstellen lassen. Während es sich bei manchen Pflanzenteilen empfehlen mag, durch Aufkochen mit Wasser vor der Säureextraktion spaltende Fermente zu zerstören, dürfte sich dies z. B. bei Muskelfleisch verbieten, da Francis und Trowbridge[3]) angeben, daß hier schon diese Prozedur den anorganischen Phosphor beträchtlich anreichert.

In meiner Arbeit habe ich nur die Literaturstellen angegeben, die zu ihr unmittelbaren Bezug hatten. Zum Schlusse möchte ich aber noch alle die Stellen anführen, wo ich in der Literatur Aufzeichnungen über Ergebnisse von Extraktionen bei Versuchen über Phosphorverbindungen in organischer Materie gefunden habe.

---

1) loc. citat.

2) Pflügers Archiv für Physiolog. 63. S. 9. 1893.

3) Journ. of Biol. Chemistry. 7. S. 481. 1910; zitiert nach Physiolog. Centralbl. 24. S. 981. 1910.

Literaturverzeichnis.

1. Bang-Lund, Abderhalden, Biochemisches Handlexikon, Phosphatide, S. 225, und Chemie der Lipoide. S. 17. 1911.

2. Bitto, Über Bestimmung des Lezithingehaltes der Pflanzenbestandteile. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 19. S. 488. 1894.

3. Bayer, Über einige Bestandteile des gelben Lupinensamens. Landwirtschaftl. Versuchsstat. 14. S. 165.

4. Bergell, Darstellung des Lezithins. Berlin. Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft. Bd. 33, 2. S. 2584.

5. Boydanow, Neue Methode der Fettbestimmung in tierischen Substanzen Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. 68. S. 431. 1897.

6. Cyapeks, Biochemie der Pflanzen. I. S. 152.

7. Diakonow, Das Lezithin im Gehirn. Centralbl. der mediz. Wissensch. 6. 1868. Nr. 7.

8. Dormeyer, Die quantitative Bestimmung von Fetten in tierischen Organen. Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. 61. 1895. S. 341. Ebend. 65. 1896. S. 90.

9. Erlandsen, Über die lezithinartigen Substanzen des Myokardium usw. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 51. 1907. S. 71.

10. Francis und Trowbridge, Journ. of Biol. Chemistry. 7. 1910. S. 481.

11. Fränkel, Über Lipoide. Biochem. Zeitschr. 9. 1908. S. 45.

12. Gilson, Beiträge zur Kenntnis des Lezithins. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 12. S. 586. 1888.

13. Glikin, Zur biolog. Bedeutung des Lezithins. Biochem. Zeitschr. 7. S. 286. 1908. — 19. S. 271. — 21. S. 353. — 22. S. 461. — Lezithingehalt d. Knochenmarks. Biochem. Zeitschr. 4. S. 225. 1907. — Untersuchung z. Methode der Fettbestimmung in tier. Material. Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. 95. 1903. S. 107.

14. Gregerson, Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 53. 1907. S. 453.

15. Heubner und Reeb, Über Menge und Verteilung des Phosphors in einigen Nahrungsmitteln. Arch. f. exper. Patholog. und Pharmakol. 1908. Festschrift. S. 265.

16. Hiestand, Beiträge zur Kenntnis der pflanzl. Phosphatide. Dissertation Zürich (Schweiz).

17. Hoppe-Seyler, Chemische Analyse. 6. Aufl. 1893. S. 84.

18. Jakobson, Über einige Pflanzenfette. Zeitschr. f. physiolog. Chemie 13. 1889. S. 32.

19. Katz, Die mineralischen Bestandteile des Muskelfleisches. Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. 63. 1893. S. 9.

20. Koch, Die Lezithine u. ihre Bedeutung für die lebende Zelle. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 37. 1903. S. 181.

21. Kumagava und Suto, Quantitative Bestimmung von Fett und unverseifbaren Substanzen. Biochem. Zeitschr. 8. 1908. S. 212 ff. — Über die Bestimmung des Fettgehaltes nach Pflüger-Dormeyer. Beitr. z. physiolog. Chemie 4. 1904. S. 185.

22. Lietz, Über die Verteilung des Phosphors in einzelnen Pilzen. Jahresbericht der Pharmazie. 1893. S. 106.

23. Liebermann, Neue Untersuchungen über das Lezithalbumin. Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. 54. 1893. S. 577.

24. Mac-Lean, Untersuchungen über Eigelb-Lezithin. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 59. 1909. S. 221.

25. Manasse, Über den Gehalt des Eidotters an Lezithin. Biochem. Zeitschr. 1. 1906. S. 246.

26. Porges und Neubauer, Physikalisch-chemische Untersuchungen über das Lezithin. Biochem. Zeitschr. 7. 1908. S. 152.

27. Salomon-Frankfurt, Über Zusammensetzung der Samen u. Keimpflanzen. Landwirtschaftl. Versuchsstat. 43. S. 193. 1893.

28. Schaumann, Beihefte des Archivs für Schiffs- und Tropenhygiene, Bd. XIV. 1910. S. 152.

29. Schulze, E., Über Bestimmung des Lezithingehaltes der Pflanzensamen. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 20. 1894. S. 225. — Über den Lecithingehalt einiger Pflanzensamen und Ölkuchen. Landwirtschaftl. Versuchsstat. 49. S. 203.

30. Schulze und Likiernik, Über das Lezithin d. Pflanzensamen. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 15. S. 405. 1891.

31. Schulze und Winterstein, Beiträge zur Kenntnis der aus Pflanzen darstellbaren Lezithine. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 40. S. 101.

32. Schulze und Steiger, Über den Lezithingehalt der Pflanzensamen. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 13. 1889. S. 365.

33. Stern und Tierfelder, Über Phosphatide des Eigelb. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 53. S. 370. 1907.

34. Stocklasa, Das Lezithin der Pflanzen. Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften zu Wien. Mathemat. naturwissenschaftliche Klasse. 105, 1. CV. Bd. VIII. Heft. 1896.

34a. Suzuki und Yoshimura, Bull. of the college of agriculture. Tokio 1907.

35. Töpler, Der Phosphor in den Fetten einiger landwirtschaftlichen Kulturgewächse. Landwirtschaftliche Mitteilung von Poppelsdorf. 3. S. 115. 1858—60.

36. Thudichum, Chemische Konstitution des Gehirns. Tübingen 1901. S. 71.

37. Voit, Ein Beitrag zur Methode der Fettbestimmung. Zeitschr. f. Biolog. 35. N. F. 17. 1897. S. 555.

38. Vorbrodt, Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Krakau Oktober 1910. N. 8 A. S. 415 ff.

39. v. Wendt, Skandinav. Arch. f. Physiolog. 17. 1905. S. 211.

40. Winterstein und Stegmann, Über ein Phosphatid aus Lupinus albus. Zeitschr. f. physiolog. Chemie. 58. 1908/09. S. 502.

Tabelle I.

A. Kleie-Exraktionen mit heißem Alkohol im Soxleth. (10 g Substanz.)

Phosporgehalt sämtlich auf lufttrockene Substanz bezogen, auch in Nr. 5 u. 6. Extraktionszahl erhalten aus dem Mittel verschied. Beobachtungen mit der Uhr zu verschiedenen Zeiten.

Nr.	Extraktionsdauer Stunden	Extraktionszahl rund	Phosphorgehalt in Proz.	Beschaffenheit des Materials
1	24	150	0,036	lufttrocken unextrahiert
2	20	160	0,035	„ „
3	47	250	0,039	„ „
4	72	480	0,034	„ „
5	16	80	0,023	getr. unextr. Gewicht-Verl. d.
6	72	500	0,037	Trocknen 14,9%
7	24	150	0,027	nach Wasserextraktion

B. Hafer-Extraktionen mit heißem Alkohol im Soxleth. (10 g Substanz.)

Extraktionszahl erhalten aus dem Mittel verschied. Beobachtungen mit der Uhr zu verschiedenen Zeiten.

Nr.	Extraktionsdauer Stunden	Extraktionszahl rund	Phosphorgehalt in Proz.	Beschaffenheit des Materials
1	24	180	0,032	lufttrocken, unextrahiert
2	48	260	0,032	„ „
3	8	60	0,039	„ „
4	6	50	0,028	„ „
5	4	30	0,025	„ „

Tabelle II.

A. Kleie-Extraktion mit kaltem Alkohol (71 g Substanz. dauernde Extraktion).

Nummer der Extraktionen	Dauer der Extraktion Stunden	Menge der Extrakt.-Flüssigkeit ccm	Phosphormenge in Proz.
1	23½	330	0,0036
2	26	650	0,0009
3	27	500	0,0023
4	15¼	400	0,0024
5	24	350	0,0021
6	20¼		
7	20		
8	25½	1200	0,0029
9	51¼		
10	23¾		
11	146	1300	0,0016
12	40	950	0,0029
zusammen	442½	5680	0,0187 Proz.

Tabelle II.

(Fortsetzung.)

B. Hafer-Extraktionen mit kaltem Alkohol (100 g Substanz).

Nummer der Extraktionen	Dauer der Extraktion Stunden	Menge der Extrakt.-Flüssigkeit ccm	Phosphormenge in Proz.
1	22		
2	23	1000	
3	22		
4	22		
5	22		0,0165
6	22		
7	22	800	
8	22		
9	22		
10	22		
11	22		
12	22	1000	0,0016
13	22		
14	22		
15	22		
16	22		
17	22	1000	0,0023
18	44		
19	22		
20	22		
21	22	1000	
22	24		
23	22		
24	24		0,0015
25	22	1000	
26	22		
27	22		
zusammen	621 Stunden	5800 ccm	0,0219 Proz.

Tabelle III.

Wasser beziehungsweise Säureextraktion nach vorangegangener heisser Alkoholextraktion.

(Vor der Alkoholextraktion betrug die Menge von a) b) u. c) 10,0 g, bei a) wurde zur Wasserextraktion der ganze Rest der Substanz verwandt, bei b) und c) nur 1,0 g.

Zahl	Kleie							Hafer		
	a) Salzlösung: 10 g Substanz			b) 0,5 % HNO_3: 1,0 g Subst. v. 7,952 g nach Alkoh. Extrakt.			c) 0,5 % HNO_3: 1,0 g Subst. v. 7,995 g n. Alkohol-Extrakt.		
	Dauer d. Extrakt. (Durchspül.)	Phosphormenge	Extrakt. Flüssigk. (Durchsp. Flüssigk.)	Dauer d. Extrakt. (Durchsp. Dauer)	Phosphormenge	Extrakt. Flüssigk. (Durchsp. Flüssigk.)	Dauer d. Extrakt. (Durchspül.)	Phosphormenge	Extrakt. Flüssigk. (Durchsp. Flüssigk.)
1	2 Std. (35 Min.)	98,2 mg	150 ccm (150 ccm)	1 Std. (10 Min.)	11,54 mg	30 ccm (2×15 ccm)	1 Std. (10 Min.)	3,48 mg	20 ccm (2×10 ccm)
2	42 Std. (2 1/2 Std.)	16,1 mg	140 ccm (110 ccm)	7 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)	1 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×10 ccm)
3	92 Std. (1,25 Std.)	8,66 mg	50 ccm (120 ccm)	14 1/2 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)	1 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
4	22 3/4 Std. (1 1/4 Std.)	3.77 mg	70 ccm (100 ccm)	1 Std. (10 Min.)		20 ccm (2×15 ccm)	1 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
5	25 Std. (1 1/5 Std.)	2,64 mg	75 ccm (170 ccm)	1 Std. (10 Min.)		20 ccm (2×15 ccm)	1 1/2 Std. (20 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
6	24 Std. (30 Min.)	1,79 mg	90 ccm (100 ccm)	2 1/2 Std. (10 Min.)		20 ccm (2×15 ccm)	1 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
7	23 1/2 Std. (15 Min.)	1,12 mg	100 ccm (100 ccm)	2 Std. (10 Min.)		20 ccm (2×15 ccm)	3 1/2 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
8	64 3/4 Std. (3/4 Std.)	0 4 mg	100 ccm) (100 ccm)	16 Std (10 Min.)	1,06 mg	20 ccm (2×15 ccm)	1 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
9	30 3/4 Std. (30 Min.)	0,39 mg	90 ccm (130 ccm)	1 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)	1 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
10	87 Std. (30 Min.)	k. Niedschl.	100 ccm (100 ccm)	20 1/2 Std. (10 Min.)	0,52 mg	15 ccm (2×15 ccm)	15 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
11	413 3/4 Std. (8 1/2 Std.)	133,51 mg	ca. 1 Lit. („ 1280 ccm)	2 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)	1 Std. (10 Min.)	sehr geringer Niederschlag	15 ccm (2×15 ccm)
12				2 1/5 Std. (10 Min.)	kein Niederschlag	15 ccm (2×15 ccm)	1 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
13				2 1/2 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)	2 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
14				46 1/2 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)	1 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
15				1 1/2 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)	1 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
16			zusammen	121 Std. (2 1/2 Std.)	mg 13,12	265 ccm (450 ccm)	1 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
17							1 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
18							2 Std. (10 Min.)		15 ccm (2×15 ccm)
19							1 Std. (10 Min.)	k. Niedschl.	15 ccm (2×15 ccm)
						zusammen	38 Std. (3,3 Std.)	3,48 mg	305 ccm (570 ccm)

= 1,31 Proz.

= 1,043 Proz.

= 0,28 Proz.

Tabelle IV.

Extraktionen mit 0,5 % HNO_3 vor der Alkoholextraktion.

	Kleie (10,0 g Substanz)					Hafer (10,0 g Substanz)				
Zahl	Dauer der Extraktion Std.	Dauer der Durchspül. Min.	Phosphormenge	Extrakt.-flüssigkeit ccm	Durchspül.-flüssigkeit ccm	Dauer der Extraktion Std.	Dauer der Durchspül. Std.	Phosphormenge	Extrakt.-flüssigkeit ccm	Durchspül.-flüssigkeit ccm
1.	1	15		100	100	14	2		50	
2.	2¼	20		50	100	3	½		40	
3.	1	10		50		2	1	10,16 mg	40	
4.	27	15		50		15	2		40	
5.	1	10	9,9 mg	50		24	5		40	
6.	1	10		50		15	9		30	
7.	¾	10		50		65	a. 12		30	
8.	1	10		50		1½	„ 12		30	
9.	3½	15		50		1½	„ 12	3,78 mg	30	
10.	3½	20		50		2	„ 12		30	
11.	26	20		50		2	„ 12		30	
12.	1½	20		75		2	„ 12		30	
13.	24	20		50		2¾	„ 12		30	
14.	22½	20		50		48	„ 12	fehlt. Wahrscheinlich 3—4 mg	30	
15.	½	25	12,59 mg	50		22	„ 12		30	
16.	71	20	mehr um	50		45	„ 12		30	
17.	21½	20	etwa 5 mg	50		17	„ 12		30	
18.	23½	25		50		415	„ 12	5,5 mg	50	
19.	2	25		50		23½	2		30	
20.	46	25		50		21	2		30	
21.	72½	25		50		23	2		30	
22.	21½	25		50	2×50	21	2		30	
23.	1½	25		50		71	2½	1,021 mg	30	2×25
24.	21	25	0,18 mg	50		21	3		30	
25.	2	25		50		22	3		30	
26.	4½	25		50		21	3		30	
27.	17	20		50		2½	2		30	
28.	1½	20		50		46	2		30	
29.	5½	20		50		21	2		30	
30.	447	30	4,38 mg	75		21	2		30	
31.	23	30		50		7	2		30	
32.	23	20		50		15	3		30	
33.	22	30		50		24	2		30	
34.	21½	30		50		6	7	1,57 mg	30	
35.	22½	30	gering. Niederschlag 0,28 mg	50		1½	3½		30	
36.	2	20		50		2½	4		30	
37.	5	20		50		65	2		30	
38.	64	30	Spur	50		3½	ca. 12		30	
39.	23	20	trüb	50		1	„ 12		30	
40.	1	20	vollkommen wasserklar	50		1½	4		30	
41.						15	2	0,3 mg	30	
42.						4	3		30	
43.						2	3	k. Niederschl.	30	
Sa.	1072	16 Std.	1,08—1,09 %	2100	4000	1155	ca. 250	0,25—0,26 %	1400	2150

Lebenslauf.

Ich, Karl Albert Hermann Ulrich, wurde am 3. September 1887 als Sohn des jetzigen Königl. Preuß. Lotterie-Direktors Hermann Ulrich zu Berlin geboren. Am 3. September 1906 bestand ich auf dem Städt. Charlottenburger Real-Gymnasium die Reifeprüfung. Ich widmete mich dem medizinischen Studium und studierte zunächst drei Semester in Berlin. Die zwei weiteren Semester brachte ich an der Freiburger Universität zu. Während des 2. (Sommer-) Semesters genügte ich meiner halbjährigen aktiven Dienstpflicht mit der Waffe beim Kaiser Alexander-Garde-Grenadier-Regiment Nr. 1. Nach fünf Semestern bestand ich die ärztliche Vorprüfung. Das 6. und 7. Semester studierte ich wieder in Berlin. Während der drei letzten klinischen Semester war ich an der Universität Göttingen. Hier bestand ich im 11. Semester am 1. Dezember 1911 die medizinische Staatsprüfung. Vom 30. Dezember 1911 ab war ich als Medizinal-Praktikant am Elisabeth-Diakonissen- und Krankenhaus in Berlin tätig.

An dieser Stelle möchte ich auch meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Heubner, für die Anregnng zu dieser Arbeit und für die liebenswürdige Unterstützung bei ihrer Ausführung herzlichen Dank sagen.

Druck von J. B. Hirschfeld in Leipzig.